UNTERSUCHUNGEN MIT EINEM NEUEN TESTVERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER STEROIDINDUZIERTEN VASOKONSTRIKTION AN DER HAUT

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Peter Altmeyer

Saarbrücken

1973

Aus der Hautklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. F. NÖDL

UNTERSUCHUNGEN MIT EINEM NEUEN TESTVERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER STEROIDINDUZIERTEN VASOKONSTRIKTION AN DER HAUT

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1973
vorgelegt von
Peter Altmeyer geb. am 17. 2. 1945 in Günzburg a.d. Donau

DEKAN: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
REFERENT: Professor Dr. med. H. ZAUN

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mündliche Promotionsprüfung am 1o. 5. 1973

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
II.	MATERIAL UND METHODIK	3
III.	VORVERSUCHE UND WEITERE VERSUCHSANLAGE	9
IV.	UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE EINER VASOKONSTRIKTORISCHEN POTENZ VON SEXUALHORMONEN	12
V.	ANMERKUNGEN ZUR UNTERSCHIEDLICHEN VASOKONSTRIKTORISCHEN POTENZ VERSCHIEDENER KORTIKOSTEROIDE UND ZUM ZEITLICHEN REAKTIONSABLAUF	19
VI.	DER EINFLUß DER LÖSUNGSMITTEL AUF DIE STEROIDBEDINGTE VASOKONSTRIKTION	22
VII.	SCHLUßBEMERKUNGEN	25
VIII.	ZUSAMMENFASSUNG	26
IX.	LITERATUR	27

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Problematik, die sich bei der experimentellen Ermittlung von Kortikosteroidwirkungen ergibt, erscheint bis heute noch weitgehend ungelöst. Zwar werden in der Literatur zahlreiche Methoden angegeben, die sich dieser Thematik annehmen (vgl. RAAB), jedoch sind sie einerseits mit technischen Schwierigkeiten behaftet, andererseits insofern unbefriedigend, als sie vorwiegend über eine einzige Komponente des Steroideffektes eine Aussage beinhalten.

So sind experimentelle Entzündungen, die durch Histamin, Cantharidin-Pflaster, Säuren und Laugen oder durch UV-Strahlen hervorgerufen werden, eben nur Modelle, bei denen vor allem die Gefäßreaktion zur Beurteilung herangezogen wird. Noch augenscheinlicher als die voraus erwähnten Teste stützt sich der von Mc KENZIE und STOUGHTON 1962 methodisch ausgearbeitete Vasokonstriktionstest auf die Interpretation einer Gefäßreaktion, über deren Pharmakodynamik noch keine Aussagen gemacht werden können. Die Fähigkeit örtlich applizierter Kortikosteroide, eine Vasokonstriktion zu induzieren, wurde von STÜTTGEN im Jahre 1961 beschrieben. RAAB ist der Meinung, daß dieser Effekt nicht als direkte Kortikoisteroidwirkung zu deuten ist, sondern vielmehr über Mediatorstoffe abläuft. Bewie-

sen ist weder die eine noch die andere Behauptung.

Die Frage, die sich den bisherigen Ausführungen anschließt, ist die, ob sich eine Korrelation zwischen der vasokonstriktorischen Aktivität und der antiflammatorischen Wirkung synthetischer Kortikosteroide feststellen läßt. Dieser Zusammenhang ist letzlich unbewiesen und könnte nur anhand großer Untersuchungsreihen ermittelt werden. Er wird aber in zahlreichen Mitteilungen unterstellt, die über vergleichende Prüfungen von Steroideffekten anhand des Vasokonstriktionstests berichten.

Wie ZAUN (1966) in seiner Kritik des Mc KENZIE-Tests betont hat, besteht ein wesentlicher Mangel dieses Verfahrens darin, daß die Bewertung des Effektes der subjektiven Beurteilung des Prüfers obliegt. Um die Ergebnisse zu objektivieren und um genauere Aussagen über Intensität und zeitlichen Ablauf der anämischen Reaktion machen zu können, wurde von uns eine modifizierte Methodik entwickelt, welche in nachfolgender Studie mitgeteilt werden soll. Weiterhin soll die Frage geprüft werden, ob vasokonstriktorische Potenzen auf Glukokortikoide beschränkt sind, oder ob auch andere Steroidhormone, bei topischer Anwendung an der Haut, ein solches Phänomen hervorrufen.

II. MATERIAL UND METHODIK

Steroide in Reinsubstanz wurden in 96 %igem unvergälltem Äthanol gelöst und Verdünnungsreihen ($1o^{-n}$ / n = = 1 - 4) hergestellt. Als Versuchspersonen dienten insgesamt 1o8 Probanden beiderlei Geschlechts, die weder systemisch noch lokal mit Kortikosteroiden behandelt wurden und bei denen keinerlei krankhafte Hautveränderungen im Bereich der Testfelder vorlagen. Bei ihnen wurden die zu prüfenden Testsubstanzen auf symmetrisch angeordneten Testfeldern auf dem Rücken aufgetragen. Die Testareale entstanden durch Ausstanzen von 1o symmetrisch angeordneten, runden Scheiben mit einem Durchmesser von 4 cm aus einer 24 x 3o cm großen, selbstklebenden Folie (Beiersdorf-Leukoflex okklusiv) (Abb. 1). Die alkoholischen Steroidlösungen, von denen jeweils o,1 ml mit Hilfe eines Tropfengebers appliziert wurden, wurden gleichmäßig auf den Testfeldern verteilt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels erfolgte luftdichter Abschluß der Prüffelder unter einer Polyäthylenfolie, deren Ränder mit 5 cm breitem Heftpflaster fixiert wurden (Abb. 2). Dieser Okklusivverband wurde, je nach Steroid, (s.u.) zwischen 8 und 16 Stunden belassen; anschließend Abnahme der Folie, sorgfältiges Abtupfen der meist mit Schweiß bedeckten Testareale und nach einer Wartefrist von etwa 1o Minuten, Registrierung der Ergebnisse. Hierzu wurde, anstatt der bisher üblichen Methode der subjektiven Bewertung der Vasokonstriktion, ein photoelektrisches Verfahren zur Messung der Hautfarbe benutzt. Dazu

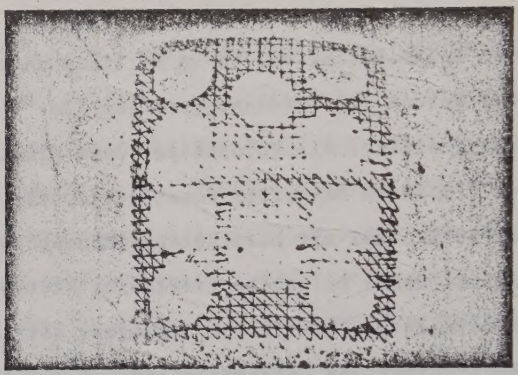


Abb. 1: Darstellung der 1o (4 cm im Durchmesser großen) Testareale mit Hilfe einer präparierten, zweigeteilten, 24 x 3o cm großen, selbstklebenden Folie.

Abb. 2: Okklusion des gesamten Testgebietes unter einer Polyäthylenfolie, die mit 5 cm breitem Heftpflaster fixiert wird.

bot sich eine von der Firma Femia unter der Typenbezeichnung ECT III entwickelte Apparatur an (Abb. 3).

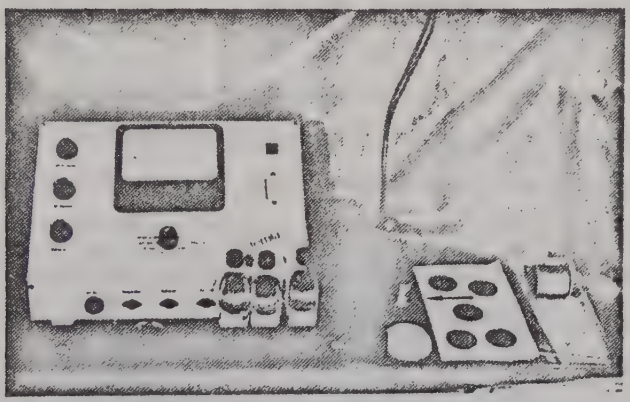
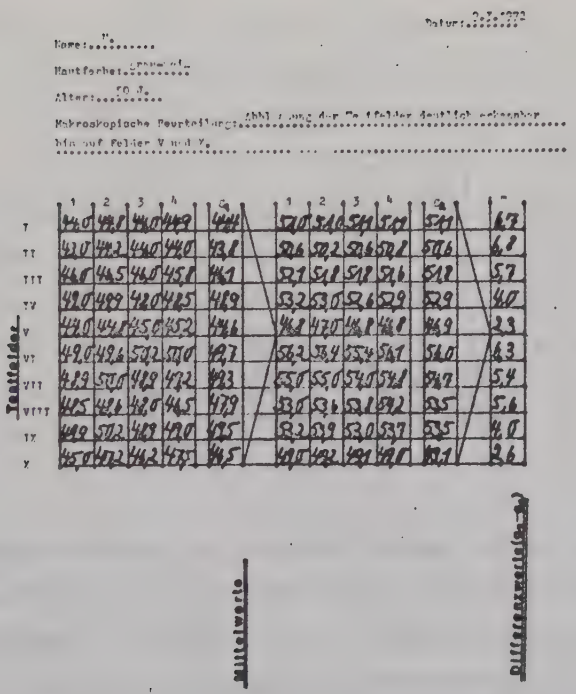


Abb. 3: Für den Vasokonstriktionstest benutzte Geräte.
Links: Meßgerät - Femia - ECT Typ III -;
in Front 3 kleine, mit Kortikoidlösung gefüllte Flaschen.
Mitte (durch Pfeil gekennzeichnet): Licht-Meßkopf. Unmittelbar davor Eichtablette (Barytweiß).
Zwischen Meßgerät und Licht-Meßkopf automatische Pipette.
Rechts im Bild: präparierte Selbstklebefolie, Polyäthylenfolie und Heftpflaster.

Das Prinzip der Hautfarbmessung besteht darin, daß die von einer Lichtquelle ausgesandten Strahlen von der Haut - je nach Hautfarbe unterschiedlich stark - reflektiert werden. Die Registrierung der remittierten Strahlen erfolgt durch ein Photoelement. Mit einem Weiß-Standard, der Lichtstrahlen loo %ig reflektiert (Barytweiß), erfolgt eine Standardisierung der Remissionswerte, so daß die Meßer-

gebnisse, in Relation zu dem Eichwert, in Prozenten angegeben werden können. Die unvorbehandelte Haut reflektiert bei unseren Probanden (durchwegs hellhäutige Mitteleuropäer) etwa 3o - 5o % der Strahlen.

Im einzelnen wurden vor dem Auftragen der Steroidlösungen 4 Messungen pro Testfeld durchgeführt. Das hieraus berechnete arithmetische Mittel wurde in Beziehung zu den entsprechend ermittelten (infolge der Hautabblassung höher liegenden) Werten nach Ablauf des Versuches gesetzt (Tabelle 1). Die Differenzbeträge, die bei unseren bisherigen Untersuchungen, je nach Hautfarbe, individueller Reaktionslage, Dauer der Steroidwirkung, Art und Konzentration des getesteten Steroids 0 - 1o % betrugen, sind als orientierender Maßstab der Vasokonstriktion zu werten (Abb. 4). Allerdings muß schon hier darauf hingewiesen werden, daß die Reflexionsdifferenzen zwischen Ausgangswert und Kontrollwert nicht ausschließlich Folge der Steroideinwirkung sind. Es zeigte sich nämlich fast regelmäßig, auch in den unbehandelten Kontrollfeldern, eine Hautabblassung (0 - 2 %), die mit der Dauer der Okklusion zunahm. Diese "passive" Vasokonstriktion war bei Probanden, die unter der Okklusivfolie stärker geschwitzt hatten, deutlich stärker ausgeprägt, und entsprechend lagen hier auch die Reflexionsdifferenzen in den steroidbehandelten Feldern etwas



Tab. 1: Meßergebnisse. Die römischen Zahlen bezeichnen die Testareale, die arabischen die Anzahl der Messungen. g_1 entspricht den arithmetischen Mittelwerten, T den Differenzwerten ($g_2 - g_1 = T$).

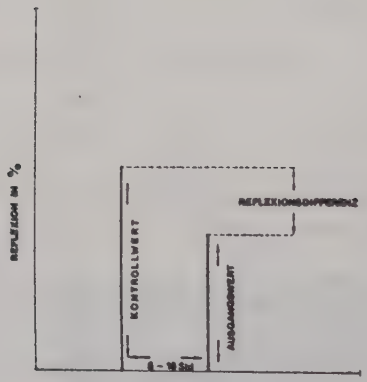


Abb. 4: Schema zur Erläuterung der Tabelle 1: Kontrollwert = g_2, Ausgangswert = g_1, Reflexionsdifferenz = T.

höher als bei anderen Probanden. Wir berücksichtigen diesen Faktor bei unseren nachfolgend mitgeteilten Untersuchungen, indem wir eine "aktive" = steroidinduzierte Vasokonstriktion nur annehmen, wenn die ermittelten Testwerte den mittleren Wert der Reflexionsdifferenzen der unbehandelten Kontrollfelder in der jeweiligen Versuchsreihe eindeutig übersteigen.

III. VORUNTERSUCHUNGEN UND WEITERE VERSUCHSANLAGE

Zur Absicherung der Methode waren einige Voruntersuchungen notwendig.

Um das gleichartige Reaktionsvermögen der Testareale zu überprüfen, wurden zunächst bei lo Kontrollpersonen alle Testfelder mit derselben Steroidlösung (Dexamethason o,1 %ig) beschickt. Das Ergebnis ist in Abb. 5 zusammengefaßt. Es zeigen sich hierbei nur geringe Schwankungen, die in den Fehlerbereich der Methode fallen. Wesentliche Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der einzelnen Testareale fanden sich auch bei den Einzeluntersuchungen nicht.

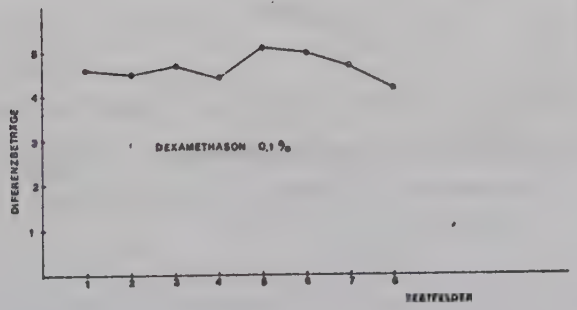


Abb. 5: Demonstration der gleichgearteten Reaktion der Testareale. Mittelwerte der Untersuchungen bei lo Personen. Hier nicht aufgeführt die Kontrollfelder 9 und lo.

Ein weiterer Vorversuch befasste sich mit der Frage der Versuchsdauer. Bisher übernahm man den von STOUGHTON und Mc KENZIE angegebenen 16-Stunden-Richtwert, ohne daß eigentlich Kontrollmöglichkeiten dieses Wertes vorlagen. Wir haben die Intensität der Vasokonstriktion bei 10 weiteren Personen über einen Zeitraum von 24 Stunden kontrolliert. Die Messungen erfolgten in zweistündigem Abstand,mit Ausnahme des Zeitraumes zwischen der 16. und 24. Stunde des Versuchs.

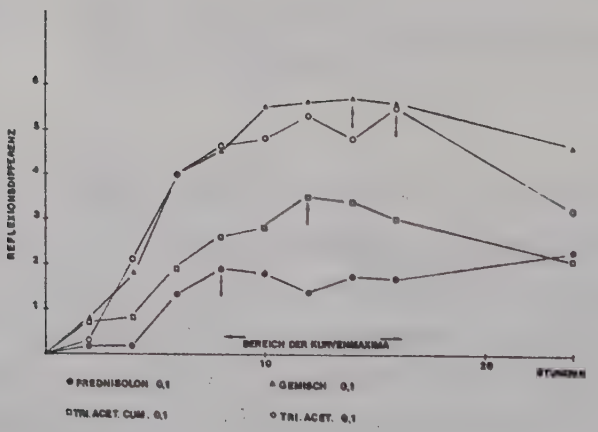


Abb. 6: Darstellung der Ergebnisse der Testung über 24 Stunden. Durch Pfeile gekennzeichnet: die Vasokonstriktionsmaxima sowie der Bereich der Kurvenmaxima zwischen der 8. (Prednisolon) und 16. (Triamcinolonacetonid) Stunde.

Die in Abbildung 6 zusammengefassten Ergebnisse - es wurden 3 alkoholische Steroidlösungen und eine Steroidkombination (s.u.) in o,1 %iger Applikation überprüft - zeigen Vasokonstriktionsmaxima der einzelnen Substanzen in einem zeitlichen Bereich von 8 bis 16 Stunden. Testung der gleichen Steroide in o,o1 %iger Konzentration führte zu grundsätzlich gleichartigen Resultaten. Es zeigte sich als ein für die Beurteilung wesentlicher Befund, daß die in ihrer vasokonstriktorischen Potenz schwachen Steroide ein zeitlich früheres Maximum erreichen, als vasokonstriktorisch stärker wirksame Substanzen. Auf dieses Phänomen wird im einzelnen weiter unten noch näher eingegangen (s. Versuchsreihe 2). Es wurden aufgrund dieser Ergebnisse die späteren Messungen, entsprechend der zu erwartenden Vasokonstriktionsmaxima der einzelnen Steroide, zeitlich fraktioniert durchgeführt.

Eine Zusammenstellung der insgesamt durchgeführten Versuche ergibt Tabelle 2. Sie ist zugleich Gliederung für die folgende Darstellung unserer Befunde.

Tabelle 2: Übersicht über die Untersuchungsreihen

Versuchsreihe	Zahl der Versuchspersonen	Zahl der auswertbaren Probanden	Substanzen	Konzentration	Lösungsmittel	Meßzeiten in Std.
Vorversuche	1o	1o	Dexamethason	o,1	Alkohol	16
1 a	71	2o	Prednisolon Prednisolon/Oestrogenbenzoat	o,1 o,1/o,o1 o,1/o,oo1	Alkohol	1o
1 b		3o	Dexamethason Dexamethason/Oestrogenbenzoat	o,1 o,1/o,1 o,1/o,oo1		16
1 c		1o	Dexamethason-Oestrogenbenzoat-Hydrocortison	o,1 - o,1 - o,1		16
1 d		1o	Dexamethason-Testosteronpropionat	o,1 - o,1 - o,1		16
2 (auch Vorversuch)	11	1o	Prednisolon Triamcinolon-acetonid Triamcinolon-acet.-cumarilsäureester Gemisch v. Triamcinolonacetonid u. Triamcinolonacetonid-cumarilsäureester	o,1/o,oo1 o,1/o,oo1 o,1/o,oo1	Alkohol	24 mit Messungen in 2stünd. Abstand
3 a	16	5	Triamcinolon Triamcinolon-acet.-cumarilsäureester Triamcinolon-acetonid/ Triamcinolon-acet.-cumarilsäureester Triamcinolon-acetonid/ Triamcinolon-acet.-cumarilsäureester Triamcinolon-acetonid Triamcinolon-acet.-cumarilsäureester Dexamethason	o,1 o,1 o,o5/o,o5 o,o25/o,o75 o,1/o,oo1 o,1/o,oo1 o,1	Milchsäureäthylester " Alkohol "	"
3 b		5	Gleiche Substanzen wie unter 3 a - ebenso die gleichen Konzentrationen	"	Butyladipat	"
3 c		5	Gleiche Substanzen wie unter 3 a u. 3 b - ebenso die gleichen Konzentrationen	"	Isopropyladipat	"

IV. UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE EINER VASOKONSTRIKTORISCHEN POTENZ VON SEXUALHORMONEN

Nachdem die Vorversuche die Brauchbarkeit der oben beschriebenen Methode gezeigt hatten, sollte zunächst untersucht werden, ob die Vasokonstriktion auf die Gruppe der Glukokortikoide beschränkt ist, oder ob mit chemisch verwandten Substanzen dasselbe Phänomen reproduzierbar ist. Diese Frage hat praktische Bedeutung, da im Handel für verschiedene Indikationen spirituöse Lösungen zur topischen Anwendung angeboten werden, die neben Kortikoiden auch andere Steroidhormone (Oestrogene und/oder Androgene) enthalten. Zur Klärung der Frage wurden in einer Testreihe, die 81 Personen umfasste, Geschlechtshormone in Reinsubstanz sowie in Kombination mit Glukokortikoiden getestet.

Untersuchungsgruppe 1 a befasste sich mit der Testung von Prednisolon (o,1 - o,oool %ig) beziehungsweise einem Prednisolon/Oestrogengemisch. Zur Kontrolle wurde sowohl ein Leerfeld, als auch ein mit dem Lösungsmittel beschicktes Feld, mit in die Versuchsanordnung einbezogen. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist aus Abbildung 7 zu entnehmen und ließe den Schluß zu, daß die Oestrogenkomponente des Prednisolon/Oestrogengemisches zu einer Verstärkung der anämischen Reaktion führte. Höhere Oestrogenzugabe führte hier zu stärkerer Vasokonstriktion, wie besonders bei Testung der

Ausgangslösungen zu sehen ist. Diese Feststellung, und damit wird auf nachfolgend berichtete Resultate vorgegriffen, konnte in weiteren, gleichartigen Untersuchungsreihen nicht bestätigt werden.

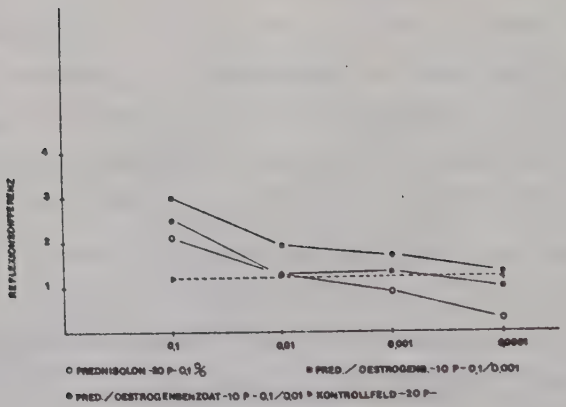


Abb. 7: Scheinbare Überlegenheit der Prednisolon/Oestrogengemische gegenüber einer Prednisolonlösung. Abszisse: Konzentrationen in % für Prednisolon. Die Konzentrationen des Oestrogenanteils sind aus den Ausgangskonzentrationen zu errechnen, die hinter den Testsubstanzen aufgeführt sind (Verdünnungsreihe: 1 : 1o/ 1 : 1oo/ 1 : 1ooo).

Wie schon oben erwähnt, müssen die ermittelten Reflexionsdifferenzen in Relation zur gesteigerten Reflexion der unbehandelten Kontrollfelder gesetzt werden. Unter Berücksichtigung dieses Faktors kann man aus Abbildung 7 folgende Schlüsse ziehen: 1. Predni-

solon führt erst ab einer Konzentration von o,1 %
zu aktiver Vasokonstriktion; bei Applikation geringerer Konzentrationen zeigt sich hingegen keine stärkere Reaktion als in den Kontrollfeldern.
2. Beide Prednisolon/Oestrogengemische (s. Übersichtstabelle) verursachen eine stärkere Vasokonstriktion als Prednisolon allein, ein Resultat, das im Hinblick auf nachfolgend mitgeteilte Ergebnisse analog konzipierter Testreihen isoliert bestehen bleibt (als zu überprüfende Hypothese sei hier diskutiert, daß die vasokonstriktorische Potenz schwach wirksamer Kortikosteroide durch Oestrogenzusatz gesteigert werden könnte, während bei stark wirksamen Kortikoiden eine Verstärkung der vasokonstriktorischen Aktivität durch solche Zusätze nicht mehr möglich ist).

In Versuchsreihe 1 b (3o Probanden) wurde, entsprechend der vorausgegangenen Reihe, Dexamethason vergleichend gegenüber Dexamethason/Oestrogengemischen getestet. Abbildung 8 gibt die Befunde bei diesen Untersuchungen zusammengefasst wieder. Es zeigen sich in den verschiedenen Verdünnungsstufen keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Reflexionsdifferenzen, die durch die Reinsubstanz beziehungsweise die Dexamethason/Oestrogengemische hervorgerufen wurden. Deutlich gegenüber Abbildung 7 ist der absolute Anstieg der Vasokonstriktion, und auch bei der vierten Konzentrationsstufe kann

hier von einer aktiven Vasokonstriktion gesprochen werden. In diesem Bereich bleibt allerdings der Anstieg der Vasokonstriktionskurve in der 4. gegenüber der 3. Konzentrationsstufe erklärungsbedürftig.

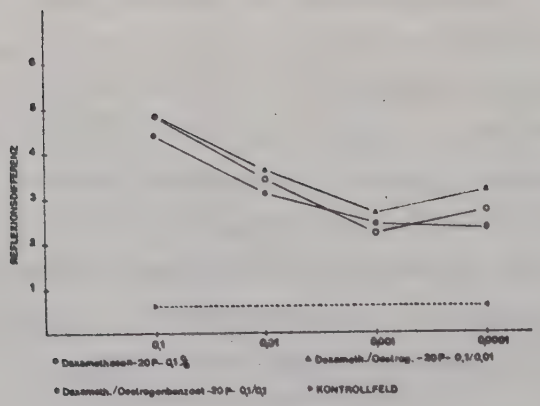


Abb. 8: Gleichgeartete vasokonstriktorische Aktivität der Reinsubstanz Dexamethason und der Dexamethason/Oestrogengemische. Die Differenzen sind gering und liegen im Fehlerbereich der Methode.

Als logische Fortentwicklung der Untersuchungsreihen 1 a und 1 b, sowie zur Abklärung der divergierenden Resultate bezüglich der vasokonstriktorischen Potenz der Oestrogene, erfolgte die mit 1 c bezeichnete Untersuchung. Bei dieser Untersuchungsreihe wurden 1o

Personen mit einer reinen Oestrogenbenzoatlösung (- 0, 1 - o,oool %ig) getestet. Sowohl die arithmetischen Mittelwerte als auch die Einzelergebnisse geben keinen Hinweis auf ein Vasokonstriktionsvermögen von Oestrogenbenzoat in den hier geprüften Konzentrationen. Dazu muß jedoch einschränkend erwähnt werden, daß Hydrokortison in einer entsprechenden Konzentration ebenfalls keine vasokonstriktorische Potenz aufweist, wie in Abbildung 9 verdeutlicht wird.

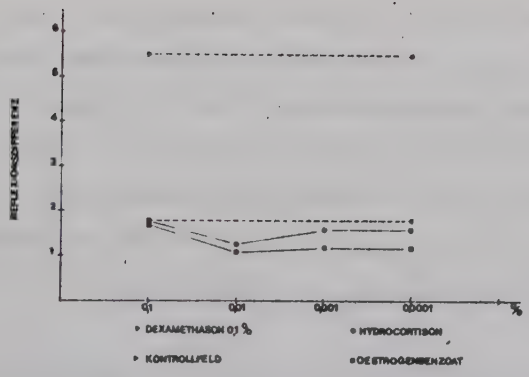


Abb. 9: Mittlere Reflexionsdifferenzen bei 1o Kontrollpersonen, die mit Oestrogenbenzoatlösungen und Hydrokortisonlösungen in verschiedenen Konzentrationen getestet wurden (in Beziehung gesetzt zur Reaktion der Kontrollfelder und zur mittleren Reflexionsdifferenz bei Applikation o,1 %iger Dexamethasonlösung).

Auch bei Berücksichtigung der Einzelergebnisse konnte für Hydrokortison in keiner Konzentrationsstufe eine positive Reaktion nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu Untersuchungen von ZAUN beziehungsweise Mc KENZIE und bedarf infolgedessen - auch in Anbetracht der geringen Fallzahl - einer weiteren Festigung. Es sollte an dieser Stelle jedoch nochmals auf die Schwierigkeiten bei der Beurteilbarkeit einer echten Vasokonstriktion hingewiesen werden, insbesondere wenn Grenzbereiche angesprochen werden; die Reaktion der Kontrollfelder in Abbildung 9 unterstreicht diese Aussage deutlich.

Als Abschluß der einleitend aufgeworfenen Fragestellung bezüglich der vasokonstriktorischen Aktivität von Geschlechtshormonen wurde bei insgesamt 1o Testpersonen eine Untersuchung mit o,1 %igem Testosteron und o,1 %igem Testosteronpropionat durchgeführt. Auch hier gaben die Untersuchungsergebnisse keinerlei Hinweis auf eine Gefäßreaktion.

Zusammenfassend kann zur vorliegenden Thematik folgendes Urteil gegeben werden:
Eine vasokonstriktorische Potenz der getesteten Geschlechtshormone ist nicht nachzuweisen. Einschränkend muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß eine o,1 %ige Applikationsform nicht überschritten wurde.

Weitere Untersuchungen mit stärker konzentrierten Testsubstanzen sollten durchgeführt werden. Überprüft werden sollte auch die aus den Ergebnissen der Versuchsreihe 1 a herzuleitende Frage, ob vielleicht die vasokonstriktorische Potenz sehr schwach wirksamer Kortikosteroide durch Oestrogenzugabe gesteigert werden kann.

V. ANMERKUNGEN ZUR UNTERSCHIEDLICHEN VASOKONSTRIKTORISCHEN POTENZ VERSCHIEDENER KORTIKOSTEROIDE UND ZUM ZEITLICHEN REAKTIONSABLAUF

Im folgenden Teil der vorliegenden Arbeit soll auf einige Gesichtspunkte zur Aussagekraft der oben beschriebenen Methode kurz eingegangen werden. In früheren Untersuchungen wurde jeweils nur das Vorhandensein oder Fehlen einer anämischen Reaktion registriert, ohne Bewertung des zeitlichen Faktors beim Zustandekommen dieses Phänomens. Zwar ist RAAB der Meinung, daß eine Aussage über die Intensität der anämischen Reaktion ohne Wert ist, jedoch läßt sich diese Behauptung nach unseren Ergebnissen nicht bestätigen. Vielmehr - und dies soll an den Beispielen der Abbildungen 6 und 1o stellvertretend nachgewiesen werden - rangieren bezüglich der Stärke der anämischen Reaktion solche Steroide an erster Stelle, denen man nach den bisherigen Bewertungsmaßstäben die stärkste vasokonstriktorische Potenz zumisst. Die Bewertungsskala in Abbildung 1o, die sich auf Ergebnisse von 95 Personen stützt, ist eindeutig und bedarf bezüglich ihrer Aussage keiner weiteren Interpretation. Die Reaktion des Hydrokortisons entspricht der in Abbildung 9 und muß in diesem Zusammenhang betrachtet werden. Sie erscheint hier günstiger, da der Wert für die steroidunabhängige, versuchsbedingte Vasokonstriktion infolge der

arithmetischen Nivellierung der Kontrollergebnisse tiefer berechnet wurde.

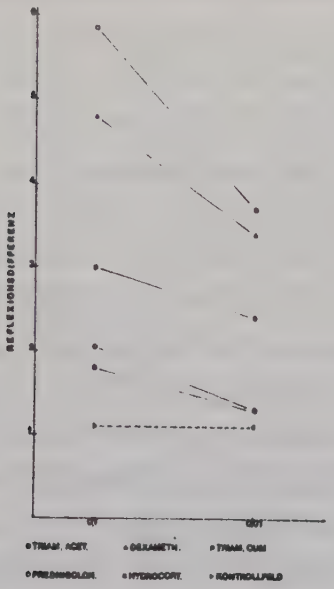


Abb. 1o: Vergleich der Ergebnisse bei Prüfung mehrerer Steroide in o,1 und o,o1 %iger Konzentration.

Was den zeitlichen Ablauf der anämischen Reaktion einzelner Kortikosteroide betrifft, so soll anhand der 2. Versuchsreihe (Abb. 6), die einen Personenkreis von 1o auswertbaren Probanden umfasst, auf dieses Problem eingegangen werden. Zur Methodik darf auf die einleitenden Ausführungen aufmerksam gemacht werden, wonach zwei stündliche Messungen innerhalb von 24 Stunden durchgeführt wurden, mit Ausnahme des Zeitraumes zwischen der 16. und der 24. Stunde. Bemerkenswert ist

der rasche Anstieg der Kurvenverläufe zwischen der 2. und der 6. Stunde, die zeitlich differenten Kurvenmaxima, worauf bereits hingewiesen wurde, sowie der langsame Abfall bis hin zur 24. Stunde. Erwähnenswert erscheint uns auch, daß der Zeitpunkt maximaler Vasokonstriktion bei Testung eines Gemisches von Triamcinolonacetonid und Triamcinolonacetonidcumarilsäureester zwischen den Zeitpunkten liegt, zu denen bei Testung der Einzelsubstanzen die Kurvenmaxima erreicht wurden. Der 24Stundenwert ist insofern mit einer gewissen Vorsicht zu beurteilen, als es infolge der länger andauernden Okklusion zwischen der 16. und der 24. Stunde zu einer stärkeren Abblassung sämtlicher Testfelder kam. In Abbildung 6 sollte die Reaktion des zu diesem Zeitpunkt sicher nicht stärker vasoaktiven Prednisolon als Maßstab dieses Phänomens akzeptiert werden, anstatt der hier (wegen der besseren Übersichtlichkeit) nicht eingezeichneten Kontrollkurve.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung, daß bei mehreren Personen eine deutliche Hautabblassung im Bereich der Testfelder noch Tage nach Beendigung des Versuches nachweisbar war. Die sich daran anschließende Frage nach der Dauer der vasokonstriktorischen Effektivität der verschiedenen Kortikosteroide bleibt unbeantwortet.

VI. DER EINFLUß DER LÖSUNGSMITTEL AUF DIE STEROIDBEDINGTE VASOKONSTRIKTION

Eine geringe Änderung der bisherigen Versuchsanordnung wurde notwendig, um einige Aspekte eines weiteren Problems aufzuzeigen, dessen Klärung noch eine Reihe ergänzender Untersuchungen erforderlich machen wird. Es handelt sich um die Frage, inwieweit Trägersubstanzen die Resorptionsquote beeinflussen können. Grundsätzlich - und hier kann man sich den Ausführungen von H. KRAUSE anschließen - wird die Sorption inkorporierter Kortikoide ansteigend in der Reihenfolge Puder, Lotio, Paste, Creme, Salbe, alkoholische Lösung erfolgen. Die Wichtigkeit der den lokalen Anwendungsformen der Kortikosteroide zugrunde gelegten Vehikelsubstanzen steht außer Diskussion. Diese auf Erfahrungen gestützten Aussagen sollen durch die unter 3 aufgeführten Untersuchungen untermauert beziehungsweise objektiviert werden.

Folgende Trägersubstanzen standen zur Verfügung:

Alkohol

Butyladipat

Milchsäureäthylester

Isopropyladipat.

Sowohl Triamcinolonacetonid als auch Triamcinolonacetonidcumarilsäureester wurden an einem Patientenkollektiv (16 Probanden, von denen 15 ausgewertet wurden) in

den aufgeführten Lösungsmitteln getestet. Dabei zeigte das Triamcinolonacetonid - ebenso wie schon bei Testung alkoholischer Lösungen - auch bei Applikation in allen anderen Lösungsmitteln stärkere vasokonstriktorische Potenz, als sein Cumarilsäureester (vgl. Abbn. 11 a u. 11 b). Dieser Befund weist darauf hin, daß Änderungen an der Seitenkette des Steran-Ringsystems Resorption und/oder Aktivität der Steroide beeinflussen. Die unterschiedliche Stärke der Vasokonstriktion sowohl durch Triamcinolonacetonid (Abb. 11 a), als auch durch Triamcinolonacetonidcumarilsäureester (Abb. 11 b), bei Inkorporation in verschiedenen Lösungsmitteln, muß wahrscheinlich durch differente Resorptionsquoten erklärt werden. Dies bedarf jedoch weiterer Nachprüfung. Auch die Frage nach dem Einfluß des Lösungsmittels auf den zeitlichen Ablauf der Resorption, die sich bei Betrachtung der in Abb. 11 wiedergegebenen Kurven stellt, macht weitergehende Untersuchungen erforderlich. Ungeklärt bleiben schließlich die unterschiedlichen Verlaufskurven im Falle des Lösungsmittels Butyladipat, das als Trägersubstanz von Triamcinolonacetonid einen maximalen Vasokonstriktionseffekt vermittelte und im Falle von Triamcinolonacetonidcumarilsäureester einen gegenteiligen Effekt hervorrief.

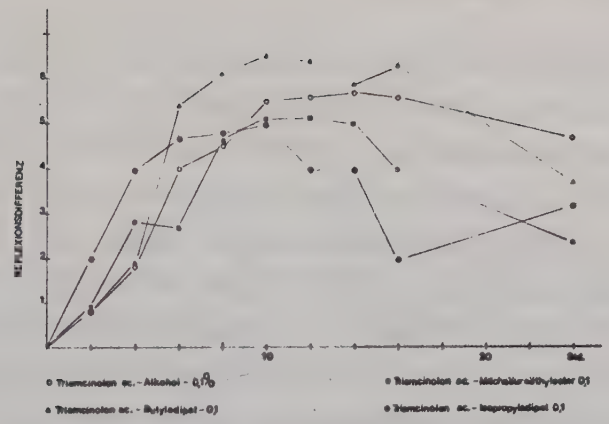


Abb. 11 a: Einfluß des Lösungsmittels auf die vasokonstriktorische Aktivität von Glukokortikoiden (Triamcinolonacetonid). Untersuchung bei insgesamt 15 Probanden.

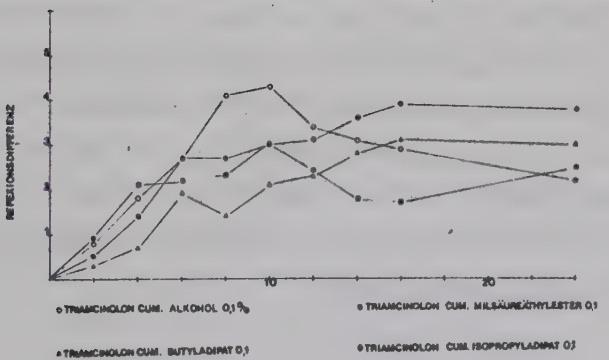


Abb. 11 b: Einfluß des Lösungsmittels auf die vasokonstriktorische Aktivität von Glukokortikoiden (Triamcinolonacetonidcumarilsäurecester). Untersuchung bei insgesamt 15 Probanden.

VII. SCHLUßBEMERKUNGEN

Die hier demonstrierte Modifikation des Vasokonstriktionstests bietet erstmals die Möglichkeit einer genaueren Analyse der durch die Glukokortikoide bedingten Gefäßreaktion. Die Empfindlichkeit der Methode ist ausreichend, um Wirkungsunterschiede verschiedener Kortikosteroidderivate auch bei gleichen Konzentrationsstufen zu erfassen, so daß eine vergleichende Prüfung dieser Substanzen auch in ihrem für externe Applikationen optimalen Konzentrationsbereich möglich wird. Damit entfällt die Notwendigkeit, anhand von Verdünnungsreihen Urteile bezüglich der Vasoaktivität eines Steroids abgeben zu müssen, die immer nur grob orientierenden Wert hatten. Die Methode verspricht auch neue Einsichten bezüglich des zeitlichen Ablaufs der Steroideinwirkung, sowie der Beeinflussung der Steroidresorption durch Variation des Vehikels, oder Anwendung in Kombination mit anderen Wirkstoffen. Wenn die Ergebnisse unserer Erstuntersuchungen zunächst weniger auf offene Fragen eine Antwort geben als vielmehr neue Fragen aufgezeigt haben, so können wir doch zugleich einen Weg zur Lösung dieser Fragen anbieten.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Ein neues Testverfahren zur Erfassung der steroidinduzierten Konstriktion der Hautgefäße wurde an 108 Versuchspersonen auf seine Praktikabilität und Aussagefähigkeit überprüft. Es konnte gezeigt werden, daß verschiedene Glukokortikoide unterschiedlich starke Gefäßreaktionen hervorrufen und auch hinsichtlich des Zeitpunktes maximaler Vasokonstriktion differieren. Weiterhin konnte eine Abhängigkeit der Intensität der Vasokonstriktion vom Applikationsvehikel aufgezeigt werden. Ein vasokonstriktorischer Effekt von Oestrogenen und Androgenen bei topischer Anwendung war in den geprüften Konzentrationen nicht sicher zu demonstrieren. Die Resultate dieser Studie überzeugen davon, daß die hier beschriebene Untersuchungsmethode weit besser als der bisher gebräuchliche "Vasokonstriktionstest (Mc KENZIE)" geeignet ist, auf Fragen nach der Wirkungsstärke extern applizierter Steroide und ihrer Beeinflussung durch Vehikel, zusätzliche Wirkstoffe oder Veränderungen der Seitenkette, humanexperimentell eine Antwort zu geben.

IX. LITERATUR

KRAUSE, H. : Penetration der Steroide. Fette, Seifen, Anstrichmittel. Die Ernährungsindustrie 73, 576 (1971)

Mc KENZIE, A.W. : Percutaneous absorption of Steroids. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 86, 611 (1962)

Mc KENZIE and R.B. STOUGHTON : Method for comparing percutaneous absorption of steroids. Arch. Derm. Syph. (Chic.) 86, 608 (1962)

RAAB, W. : Probleme der lokalen Corticosteroidbehandlung. Dr. Alfred Hüthig Verlag. Heidelberg 1971

STÜTTGEN, G. : Charakterisierung anämischer Hautreaktionen auf intracutan applizierte Cortisonderivate. Klin. Wschr. 39, 267 (1961)

ZAUN, H. : Ist der Vasokonstriktionstest zum Vergleich der Wirkungsstärke örtlich applizierter Corticosteroide geeignet? Arch. klin. exp. Derm. 226, 359 (1966)

Herrn Professor Dr. med. F. NÖDL möchte ich an dieser Stelle dafür danken, daß ich das vorliegende Thema an seiner Klinik bearbeiten durfte.

Gleichzeitig gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. H. ZAUN für die Überlassung des Themas und seine stets hilfreiche Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

LEBENSLAUF

Am 17. 2. 1945 wurde ich, Peter Altmeyer als Sohn des Dr. med. Josef Altmeyer und seiner Ehefrau Rita, geb. Laber, in Güntzburg a.d. Donau geboren. Meine Jugendzeit verbrachte ich in Idar-Oberstein/Nahe, wo ich auch bis April 1954 die Katholische Volksschule und anschließend das Städtische Gymnasium besuchte. Abitur am 24. 2. 1964. Mein gesamtes Medizinstudium absolvierte ich an der Johann Wolfgang Goethe Universität in Frankfurt/Main, das ich am 6. 2. 197o mit dem Staatsexamen abschloß.

April 197o begann ich meine Medizinalassistentenzeit am Pathologischen Institut der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt/Main, um nach 6 Monaten als Medizinalassistent am Städtischen Krankenhaus Idar-Oberstein tätig zu werden. Die Approbation als Arzt wurde mir am 3o. 6. 1971 erteilt. Im November 1971 begann ich meine Facharztausbildung an der Universitätshautklinik Homburg/Saar.